



TITLE:

Sphingosine kinase 1-interacting protein is a novel regulator of glucose-stimulated insulin secretion.(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Wang, Yu

CITATION:

Wang, Yu. Sphingosine kinase 1-interacting protein is a novel regulator of glucose-stimulated insulin secretion.. 京都大学, 2017, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2017-07-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k20616>

RIGHT:

Sphingosine kinase 1-interacting protein is a novel regulator of glucose-stimulated insulin secretion Yu Wang, Shin-ichi Harashima, Yanyan Liu, Ryota Usui & Nobuya Inagaki Scientific Reports 7, Article number: 779 (2017) doi:10.1038/s41598-017-00900-7

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	王 宇
論文題目	Sphingosine kinase 1-interacting protein is a novel regulator of glucose-stimulated insulin secretion. (Sphingosine kinase 1-interacting protein はグルコース応答性インスリン分泌の新たな調節分子である。)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景】 血糖値を正常範囲内に維持するためには、グルコース応答性インスリン分泌 (GSIS) が重要である。しかし、2 型糖尿病では GSIS に障害があり、その回復は同疾患の治療において極めて重要である。GSIS は、細胞内代謝センサーである ATP 感受性 K⁺ (K_{ATP}) チャネルを介する惹起経路と惹起経路を促進する増幅経路の 2 つの経路により調節されている。また、増幅経路には、神経・ホルモン性増幅経路と代謝性増幅経路の独立した経路が提唱されている。前者は、主に消化管ホルモンであるインクレチンが作用するが、後者の詳細なメカニズムは明らかでない。膵β細胞に発現する分子として、sphingosine kinase 1-interacting protein (SKIP) を同定した。SKIP は、A-kinase anchoring proteins (AKAPs) ファミリーに属する分子として報告されているが、膵β細胞における SKIP の役割は明らかでなく、本研究においてインスリン分泌に及ぼす影響を検討した。</p> <p>【方法】 SKIP の膵β細胞での発現は、ラット膵β胞株である INS-1D 細胞と、Wister ラットおよび C57BL/6 マウスから単離した膵島において qRT-PCR 法と western blot 法により確認した。SKIP 遺伝子部位に mCherry 遺伝子を導入し、SKIP 欠損 (SKIP-mCherry ノックイン、SKIP^{-/-}) マウスを作製した。蛍光顕微鏡および二光子顕微鏡を用いて、膵島における SKIP (mCherry) の発現を検討した。SKIP^{-/-} マウスとコントロールマウス (SKIP^{+/+}) において、腹腔内グルコース負荷試験 (ipGTT) を施行し、また、単離膵島を用いて、グルコース及び GLP-1 受容体作動薬 exendin-4 刺激によるインスリン分泌を評価した。同様に、マウス単離膵島を用いて、adenosine triphosphate (ATP) や 3'-5'-cyclic adenosine monophosphate (cAMP) など惹起経路や増幅経路に関与するシグナルや sphingosine kinase (SPHK) 活性を検討し、SKIP がインスリン分泌に与える分子メカニズムを検討した。</p> <p>【結果】 SKIP は INS-1D 細胞、Wister ラットおよび C57BL/6 マウス膵島に高発現していたが、心臓、腎臓、肝臓、筋肉などの他の臓器で SKIP の発現は認められなかった。作成した SKIP^{-/-} マウスでは、SKIP^{+/+} に比べ単離膵島での SKIP 発現量が約 90% 減少した。また、mCherry (SKIP) は膵β細胞に発現していたが、α細胞には発現していなかった。SKIP^{-/-} では、SKIP^{+/+} に比べ ipGTT 後の血糖値は、30 分および 60 分で有意に低下し、血糖－時間曲線下面積 (BG-AUC) が約 15% 減少した。インスリン値は 15 分及び 60 分でそれぞれ有意に上昇し、インスリン－時間曲線下面積 (insulin-AUC) が約 1.25 倍増加した。また、10nM exendin-4 存在下での ipGTT では、SKIP^{+/+} に比べ SKIP^{-/-} では、血糖値レベルに変化はなく、インスリン値は 10 分および 15 分で有意に低かったが、insulin-AUC には差が認められなかった。SKIP^{+/+} 膵島では、GSIS は、2.8mM グルコース比し 11.1mM グルコースで 3.2 倍、16.8mM グルコースで 7.3 倍増加したのに対し、SKIP^{-/-} 膵島では、同様に、それぞれ 5.5 倍、14.4 倍増加した。しかし、exendin-4 存在下のインスリン分泌に差は認められなかった。このことから、SKIP^{-/-} 膵β細胞では、グルコース感受性が増加し、グルコース刺激単独でインスリン分泌が最大限になることが示唆された。分子メカニズムを明らかにする目的で、SKIP^{+/+} および SKIP^{-/-} 膵島において、SPHK 活性、惹起経路に関与する ATP 含有量、KCl</p>			

<p>(potassium chloride) 刺激によるインスリン分泌、細胞内カルシウム濃度、増幅経路に関与する cAMP 含有量、Epac2 刺激、protein kinase A (PKA) の抑制、および cAMP や cyclic guanosine monophosphate (cGMP) を調整する phosphodiesterase (PDE) 活性を測定したが、これらはいずれも差が認められなかった。</p> <p>【結語】 SKIP は膵β細胞に発現し、同分子の欠損は、cAMP、PDE、SPHK 非依存性に GSIS を増強した。以上から、SKIP は、新たなメカニズムを介してインスリン分泌を調節する可能性が示唆された。</p>
<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>2 型糖尿病はグルコース応答性インスリン分泌に障害があり、その病態解明は同疾患の治療において重要である。申請者は膵β細胞に発現する分子として sphingosine kinase 1-interacting protein (SKIP) を同定し、同分子の欠損 (SKIP^{-/-}) マウスを作製することでインスリン分泌に及ぼす影響を検討した。</p> <p>SKIP^{-/-} マウスでは、SKIP^{+/+} マウスと比べ腹腔内グルコース負荷試験後の血糖値は有意に低下し、インスリン値は有意に上昇した。一方、GLP-1 受容体作動薬 exendin-4 存在下での腹腔内グルコース負荷試験では、両マウス間で血糖値及びインスリン値に有意な差は認められなかった。SKIP^{-/-} 膵島では SKIP^{+/+} 膵島に比べ低グルコース刺激下でインスリン分泌に変化はなかったが、高グルコース刺激下では約 2.5 倍に増強した。しかし、exendin-4 存在下のインスリン分泌に差は認められなかった。以上から、SKIP^{-/-} 膵β細胞ではグルコース感受性が増加し、グルコース刺激単独でインスリン分泌が最大になることが示唆された。分子機序の解明では、SKIP^{+/+} 及び SKIP^{-/-} 膵島では、sphingosine kinase 活性、惹起経路に関与する ATP 含有量、KCl 刺激によるインスリン分泌、細胞内カルシウム濃度、増幅経路に関与する cAMP 含有量、Epac2 刺激、PKA の抑制、及び cAMP や cGMP を調整する PDE 活性にはいずれも差が認められなかった。これらの結果から、SKIP は、新たな機序を介してインスリン分泌経路を調節する可能性が示唆された。</p> <p>以上の研究は、グルコース応答性インスリン分泌の新たな分泌機序の存在の可能性を示し、2 型糖尿病の病態解明ならびに治療に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 29 年 06 月 06 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>
要旨公表可能日 年 月 日